

WYDZIAŁ NAUK MEDYCZNYCH W ZABRZU,
ŚLĄSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY W KATOWICACH
Katedra i Klinika Pediatrii
ul. 3 Maja 13/15, 41- 800 Zabrze, sekretariat- tel.(032) 3704 283 (fax. 292)
e-pocztą: pedzab@sum.edu.pl
Kierownik Katedry: Prof. dr hab. n. med. Maria Szczepańska
Recenzent: Prof. dr hab. n. med. Maria Szczepańska

RECENZJA

rozprawy doktorskiej lek. med. Michała Szyszki

„Badanie ATHENA: patogeneza nadciśnienia tętniczego - mikroRNA jako brakujące ogniwo w rozwoju nadciśnienia tętniczego u dzieci”

Zgodnie z uchwałą Rady Dyscypliny Nauk Medycznych WUM z dn. 23.09.2026 r. przedstawioną w piśmie z dnia 28.09.2026 roku o powołaniu mnie na recenzenta wyżej wymienionej rozprawy, mam zaszczyt przedstawić poniższą opinię.

Oceniając przedłożoną mi rozprawę na stopień doktora nauk medycznych, dokonam jej charakterystyki w zakresie:

1. wartości celu badawczego
2. poprawności metodycznej
3. redakcji przedłożonej rozprawy
4. znaczenia klinicznego i praktycznego wniosków wynikających z przeprowadzonych analiz.

1. Wartość celu badawczego

W pierwszej części wstępu **lek. Michał Szyszka** przedstawił zagadnienia dotyczące nadciśnienia tętniczego (NT), które u dzieci jest jedną z najczęściej występujących chorób przewlekłych a pomimo częstego braku jawnych objawów klinicznych (zwłaszcza w NT pierwotnym) może powodować zmiany narządowe uszkadzające strukturę serca, nerek i naczyń krwionośnych już w tej populacji. Doktorant podkreślił, że wczesna identyfikacja mechanizmów odpowiedzialnych za rozwój NT oraz markerów pozwalających na wykrycie subklinicznych zmian narządowych jest aktualnie jednym z głównych wyzwań hipertensjologii dziecięcej. Przedstawił porównawczo międzynarodowe rekomendacje

Towarzystw dotyczące rozpoznawania nadciśnienia tętniczego u dzieci do ukończenia 16. roku życia i u młodzieży w wieku 16–17 lat. Zwrócił uwagę, że w ostatnich latach pogląd o dominacji nadciśnienia wtórnego w wieku rozwojowym uległ istotnej zmianie i że współczesne dane epidemiologiczne wskazują, że NT pierwotne odpowiada aktualnie nawet za połowę przypadków NT w populacji dziecięcej.

Coraz częstsze rozpoznawanie NT pierwotnego już u młodszych dzieci, u których często współwystępuje nadwaga/otyłość, hiperurykemia i zespół metaboliczny, a także obecność wczesnych zmian narządowych wskazują, że choroba ta stanowi ważny problem zdrowia publicznego i wywiera istotny wpływ na poziom zdrowia u osób dorosłych.

Mimo postępu nauk medycznych patogeneza NT pierwotnego nadal nie została w pełni wyjaśniona i obecnie uważa się, że NT ma charakter złożony włączając mechanizmy genetyczne, metaboliczne, immunologiczne oraz środowiskowe. Podjęcie tego niezwykle ważnego i interesującego problemu świadczy o dojrzałości naukowej Doktoranta.

Główne mechanizmy patogenetyczne nadciśnienia tętniczego pierwotnego w wieku rozwojowym Doktorant przedstawił graficznie pod postacią czytelnej, kolorowej ryciny (równie profesjonalnie przedstawione są kolejne ryciny).

W kolejnej części **lek. Michał Szyszka** przedstawił poglądy dotyczące mikroRNA jako posttranskrypcyjnych czynników regulatorowych ekspresji genów. Omówił proces biogenezy mikroRNA. Podkreślił, że pojedyncze mikroRNA może regulować ekspresję wielu genów uczestniczących w tych samych szlakach biologicznych. Tak zwane krążące mikroRNA można wykryć w różnych płynach ustrojowych, w tym w surowicy i osoczu. Dzięki temu mogą one oddziaływać nie tylko na komórkę, w której zostały wytworzone, lecz także na komórki i tkanki położone w innych częściach organizmu. MikroRNA są obecnie szeroko badane w różnych eksperymentach jako potencjalne biomarkery ryzyka sercowo-naczyniowego, jak również jako potencjalne cele nowych terapii. Doktorant scharakteryzował rolę: mikroRNA-16, mikroRNA-21, mikroRNA-27a, mikroRNA-27b, mikroRNA-133a oraz mikroRNA-145 w regulacji procesów zachodzących w układzie sercowo naczyniowym i w nerkach. Są to dane uzyskane z badań w populacji osób dorosłych. Przedstawił także dane i ciekawe spostrzeżenia, że zarówno pojedyncza sesja wysiłku fizycznego, jak i długotrwały trening mogą modulować ekspresję licznych mikroRNA biorących udział w regulacji funkcji układu sercowo-naczyniowego.

Z tego i dalszych fragmentów Rozprawy wynika niezbicie, że Doktorant jest bardzo dobrze zaznajomiony z przedmiotem wykonywanych badań, posiada niezbędną wiedzę teoretyczną w opracowywanym zakresie.

Lek. Michał Szyszka jako cel prowadzonych prac badawczych założył:

1. Ocenę ekspresji mikroRNA-16, mikroRNA-21, mikroRNA-27a, mikroRNA-27b, mikroRNA-133a i mikroRNA-145 u dzieci i młodzieży z nadciśnieniem tętniczym pierwotnym i u zdrowych rówieśników.
2. Ocenę zależności pomiędzy poziomem ekspresji powyższych mikroRNA a ciśnieniem tętniczym u nieleczonych farmakologicznie dzieci z nadciśnieniem tętniczym pierwotnym.
3. Ocenę zależności pomiędzy poziomem ekspresji mikroRNA a zmianami narządowymi: masą lewej komory w badaniu echokardiograficznym, grubością kompleksu błona wewnętrzna–błona środkowa tętnic szyjnych wspólnych (cIMT) oraz sztywnością tętnic u dzieci z nadciśnieniem tętniczym pierwotnym.
4. Ocenę krążących mikroRNA jako potencjalnych biomarkerów zaburzeń funkcji skurczowej serca wyrażonych jako odkształcenie podłużne lewej komory (LV GLS) u dzieci z nadciśnieniem tętniczym pierwotnym.
5. Ocenę wpływu pojedynczej sesji standaryzowanego wysiłku aerobowego na ciśnienie tętnicze i ekspresję mikroRNA u dzieci i młodzieży z NT pierwotnym i u zdrowych rówieśników.

Należy szczególnie podkreślić, że przeprowadzone przez Doktoranta badania są pierwszymi, wykonanymi w takim zakresie w dziedzinie nefrologii dziecięcej w Polsce.

Wyniki zostały opublikowane w cyklu 4 prac o łącznym IF: 14,7 (450 pkt MNiSW).

Publikacje powstały w ramach projektu ATHENA (ang. *ArTerial HypErtension PATHogenesis — microRNA as a missing link in the disease development in children*) i dokumentują kolejne etapy realizacji programu badawczego.

2. Poprawność metodyczna

2.1 Materiał i metody

Lek. Michał Szyszka do analiz włączył 56 dzieci z nowo rozpoznanym, nieleczonym farmakologicznie NT pierwotnym oraz 59 zdrowych rówieśników stanowiących grupę kontrolną.

Oceniano podstawowe parametry antropometryczne, m.in. wzrost, masę ciała, wskaźnik masy ciała (BMI) oraz ich wartości Z-score, pomiary gabinetowego ciśnienia tętniczego metodą oscylometryczną oraz ABPM. Dodatkowo w ramach oceny uszkodzenia narządowego wykonywano badania echokardiograficzne z oceną masy lewej komory serca (LVM) oraz wskaźnika masy lewej komory (LVMI) oraz oceniono globalne odkształcenie podłużne lewej komory (LV GLS) metodą śledzenia markerów akustycznych w badaniu ECHO i również grubość kompleksu błona wewnętrzna–błona środkowa tętnic szyjnych wspólnych (cIMT),

szyjno-udową prędkość fali tętna (cfPWV) oraz wskaźnik albumina-kreatynina w porannej porcji moczu (ACR).

W głównym badaniu analizowano wpływ pojedynczej, standaryzowanej sesji wysiłku aerobowego na ekspresję mikroRNA oraz parametry ciśnienia tętniczego.

Próbki krwi żyłnej do oznaczeń cząsteczek mikroRNA były pobierane na czczo przed oraz po wysiłku fizycznym. Do kontroli jakości zastosowano syntetyczne oligonukleotydy *Caenorhabditis elegans* (cel-mikroRNA-39 oraz cel-mikroRNA-54), dodawane odpowiednio na etapie izolacji RNA oraz odwrotnej transkrypcji. Analizowano ekspresję wybranych mikroRNA: mikroRNA-16, mikroRNA-21, mikroRNA-27a, mikroRNA-27b, mikroRNA-133a oraz mikroRNA-145.

Na przeprowadzenie badań Doktorant uzyskał zgodę Komisji Bioetycznej przy Warszawskim Uniwersytecie Medycznym.

2.2 Wyniki

Wyniki zostały przedstawione w sposób bardzo szczegółowy. Uzyskane dane i porównania wybranych parametrów udokumentowano w dobrze dopracowanych graficznie tabelach oraz rycinach, które jednocześnie są częścią prac oryginalnych wchodzących w skład rozprawy.

Doktorant w swojej Rozprawie wykazał, że:

- 1). Pacjenci z otyłością, stanowili aż 41% badanej grupy. Chłopcy z NT pierwotnym stanowili 75% badanej grupy, co jest zgodne z danymi populacyjnymi.
- 2). Istotne obniżenie wartości ciśnienia tętniczego po wysiłku fizycznym (pojedyncza sesja wysiłku aerobowego) występowało wyłącznie u dzieci z NT pierwotnym.
- 3). Ekspresja mikroRNA-27b oraz mikroRNA-133a była istotnie niższa u pacjentów z nadciśnieniem tętniczym w porównaniu do zdrowych rówieśników.
- 4). Ekspresja mikroRNA-16, -21, -27a i -145 korelowała z wartościami ciśnienia tętniczego u dzieci z NT pierwotnym.
- 5). W modelu wieloczynnikowej regresji logistycznej wykazano, że wysoka wyjściowa ekspresja mikroRNA-16 była niezależnym czynnikiem różnicującym pacjentów z wyższymi ($>2,1$) i niższymi wartościami Z-score dla rozkurczowego ciśnienia tętniczego.
- 6). Nie występowały istotne korelacje pomiędzy poziomem ekspresji badanych mikroRNA a wskaźnikami HMOD w badaniu spoczynkowym.
- 7). Zmiany ekspresji mikroRNA po wysiłku fizycznym korelowały z parametrami nadciśnieniowego uszkodzenia narządowego (HMOD): wzrost ekspresji mikroRNA-133a był związany z większą masą lewej komory serca (LVMI), natomiast zwiększenie ekspresji mikroRNA-145 korelowało z niższymi wartościami skurczowego ciśnienia tętniczego w 24-

godziennym pomiarze oraz mniejszym nasileniem zmian naczyniowych ocenianych między innymi za pomocą grubości kompleksu błona wewnętrzna–błona środkowa tętnic szyjnych wspólnych oraz prędkości fali tętna.

7). W grupie kontrolnej po wysiłku obserwowano wzrost ekspresji mikroRNA-27b, mikroRNA-133a oraz mikroRNA-145, natomiast u dzieci z NT pierwotnym istotnemu zwiększeniu ulegała jedynie ekspresja mikroRNA-145.

8). Dzieci z NT pierwotnym cechują się mniej ujemnymi wartościami globalnego odkształcenia podłużnego lewej komory (LV GLS). Dodatkowo stwierdzono istotną korelację pomiędzy ekspresją mikroRNA-16 a wartościami LV GLS.

3. Redakcja przedłożonej pracy

Rozprawę rozpoczyna wykaz publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej z analizą bibliometryczną: str. 4-6; następnie analiza bibliometryczna całokształtu dorobku publikacyjnego: str. 7-10; spis treści: str. 11; wykaz zastosowanych skrótów: str. 12; kolejno - oryginalny układ: streszczenie w języku polskim: str. 13-17; streszczenie w języku angielskim: str. 18-22; wstęp: str. 23-39; uzasadnienie połączenia publikacji w jeden cykl: str. 40; założenia i cele pracy: str. 41; teksty publikacji: str. 42-119; omówienie: str. 120-124; wnioski: str. 125; zgoda komisji bioetycznej: str. 126-127; finansowanie badań: str. 128; oświadczenia współautorów: str. 129-142; piśmiennictwo 143-147.

Piśmiennictwo zawiera 63 pozycje, w tym wszystkie od roku 2008, oraz 25 od roku 2020 co potwierdza bardzo dobre przygotowanie bazy literaturowej i przeznaczenie adekwatnego nakładu pracy do zebrania odpowiedniej literatury dla wybranych w rozprawie nowoczesnych zagadnień. Dokumentuje to umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej i adekwatnego zaplanowania badań naukowych.

4. Wartość kliniczna i praktyczna wniosków wynikających z przeprowadzonych analiz

W podsumowaniu **Lek. Michał Szyszka** konfrontuje wyniki w odniesieniu do danych z piśmiennictwa światowego i polskiego.

Na szczególną uwagę zasługuje fakt, że uzyskane przez **lek. Michała Szyszkę** wyniki wskazują, że mikroRNA-16, mikroRNA-27b oraz mikroRNA-133a, jako cząstki odpowiadające za zmiany epigenetyczne, mogą odgrywać istotną rolę we wczesnych etapach rozwoju NT pierwotnego u dzieci, ponieważ ich ekspresja była związana z obecnością NT, odpowiedzią na wysiłek fizyczny oraz z wczesnymi wykładnikami przebudowy sercowo-naczyniowej. Ważnym wydaje się podkreślenie przez Doktoranta, że przy prowadzeniu badań

dotyczących mikroRNA cenna byłaby długoterminowa obserwacja kliniczna, pozwalająca ocenić wartość prognostyczną tych cząstek oraz możliwość przewidywania progresji choroby i rozwoju nadciśnieniowego uszkodzenia narządowego. Istotne było też spostrzeżenie, że w analizie mikroRNA dla wytypowania cząstek, które mogłyby posłużyć, jako biomarkery u dzieci z NT pierwotnym, większe znaczenie ma pełne profilowanie transkryptomyczne a nie tylko dotyczące wybranych mikroRNA. Ciekawym spostrzeżeniem jest także potwierdzenie braku istotnych zależności pomiędzy ekspresją badanych mikroRNA a klasycznymi wykładnikami nadciśnieniowego uszkodzenia narządowego oraz aktywnością układu renina–angiotensyna–aldosteron (odmiennie niż u osób dorosłych). **Lek. Michał Szyszka** stwierdza, że można ten fakt wyjaśnić różnicami w obrazie NT pierwotnego u młodych osób (najczęściej izolowane nadciśnienie skurczowe, większa rola nadczynności układu współczulnego niż aktywacji układu RAA).

Na uwagę zasługuje stwierdzenie przez Doktoranta, że nie wszystkie potencjalne czynniki interferujące, takie jak poziom aktywności fizycznej przed badaniem, nawyki żywieniowe, w tym spożycie sodu, czy status socjoekonomiczny, mogły zostać uwzględnione w analizach statystycznych i jest to także zachęta do dalszych badań prospektywnych.

WNIOSEK KOŃCOWY

Biorąc pod uwagę wartość merytoryczną pracy, ważny aspekt kliniczny i praktyczny oraz przeprowadzenie rzeczowej dyskusji i wyciągnięcie właściwych wniosków w pracach stanowiących bazę rozprawy, oceniam rozprawę jako spełniającą *warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2018 poz. 1668)*.

Rozprawa jest oryginalnym rozwiązaniem problemu naukowego.

Mam więc zaszczyt przedłożyć Radzie Dyscypliny Nauk Medyczne WUM w Warszawie wniosek o dopuszczenie **lek. Michała Szyszki** do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Biorąc pod uwagę innowacyjny charakter badań, ich wartość merytoryczną oraz duży wkład pracy Doktoranta włożony w opracowanie rozprawy doktorskiej, mam zaszczyt wnioskować o przyznanie pracy wyróżnienia.

Prof. dr hab. n. med. Maria Szczepańska